

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-170471

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月26日

(51) Int.Cl.⁶

G 0 1 N 27/28

27/327

識別記号

3 3 1

F I

G 0 1 N 27/28

27/30

3 3 1 A

3 5 3 Z

審査請求 未請求 請求項の数 6 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平8-340423

(22) 出願日

平成8年(1996)12月6日

(71) 出願人 000001443

カシオ計算機株式会社

東京都渋谷区本町1丁目6番2号

(72) 発明者 当山 忠久

東京都八王子市石川町2951番地の5 カシ

オ計算機株式会社八王子研究所内

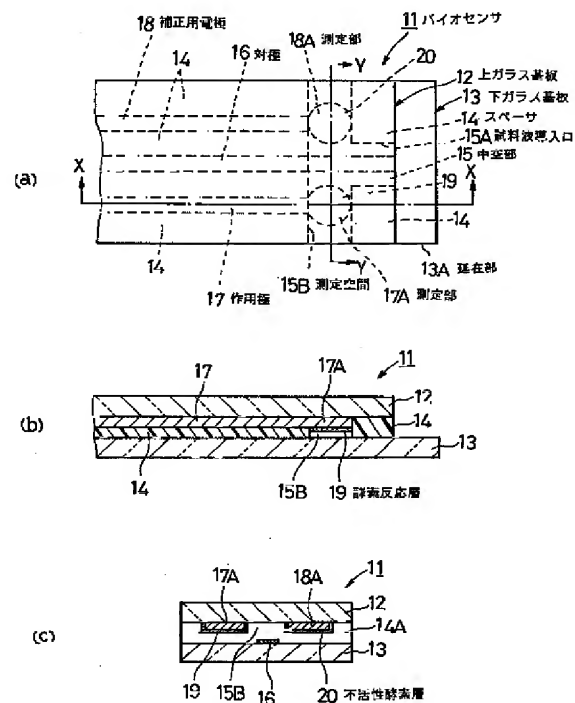
(74) 代理人 弁理士 杉村 次郎

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

【課題】 迅速に試料液を導入空間に導入でき、作製が容易なバイオセンサを提供する。

【解決手段】 上ガラス基板12の下面に作用極17と補正用電極18とが平行をなすように形成され、下ガラス基板13の上面に対極16が形成され、上下ガラス12、13どうしをスペーサ14を介して接合し、スペーサ14に形成されたT字形の切り欠きと上下ガラス基板12、13とで形成される中空部15内に、作用極17と、補正用電極18と、対極16とが露出するようにすると共に、作用極17および補正用電極18と、対極16とが平面的に重なり合わないよう配置するように形成されている。このような構造としたことにより、試料液導入口15Aから導入される試料液が、対極の撥水性の影響を受けずに毛細管現象により容易に測定空間15B内に進入し易くなり、迅速な濃度測定可能となる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 互いに離間されて対向する一対の基板のうち一方の前記基板の対向内側面に作用極が形成され、他方の前記基板の対向内側面に金属でなる対極が形成され、両基板間に形成される試料液導入空間内に試料液を導入して基質濃度の測定を行うバイオセンサにおいて、前記作用極と前記対極とが平面的に重なり合わないよう配置されていることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項2】 前記作用極の表面には、酵素反応層が形成されていることを特徴とする請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項3】 前記対極は、白金で形成されていることを特徴とする請求項1または請求項2に記載のバイオセンサ。

【請求項4】 前記作用極が形成された一方の前記基板に補正用電極が前記作用極と距離を隔てて形成され、当該補正用電極が前記対極と平面的に重なり合わないことを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項5】 前記補正用電極と前記対極との距離は、前記作用極と前記対極との距離に実質的に等しいことを特徴とする請求項4記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】この発明は、作用極と対極を備えるバイオセンサに関する。

【0002】

【従来の技術】従来、バイオセンサとしては、図2(a)～(c)に示すような構造のものが提案されている。図2(a)は、バイオセンサの平面図、同図(b)は、同図(a)のA-A断面図、同図(c)は下ガラス基板2の上面に形成された対極3を示す平面図である。このバイオセンサは、図に示すように、対をなす上ガラス基板1と下ガラス基板2にそれぞれ電極を備え、これら電極間に試料液を介在させることにより、試料液中の基質濃度を測定している。具体的には、下ガラス基板2の上面に、全域に互って白金でなる対極3が形成され、この対極3の上に電気絶縁性をもつスペーサ4を介して上ガラス基板1側が設けられている。この上ガラス基板1側は、上ガラス基板1の下面に金属等の導電材料でなる作用極5と補正用電極6とが所定距離を隔てて平行に配置・形成されている。作用極5と補正用電極6の先端部は円形状に形成されている。この先端部は、スペーサ4に形成されたT字形状の空隙4A内に露出している。このような構造であるため、作用極5および補正用電極6は、この空隙4A内で対極3と対向している。なお、作用極5の先端部下面には、酸化還元酵素、または、酸化還元酵素およびメディエータの両者、からなる酵素反応層7が形成されている。このバイオセンサを用いて試料液の基質濃度を測定するには、空隙4Aの試料液導入

口4Bに試料液を滴下して、試料液を毛管現象により空隙4A内に浸透させて作用極5および補正用電極6と、対極3と、の間に試料液が介在された状態で行う。このとき、酸化還元酵素の触媒作用により、基質が例えば酸化され、メディエータが還元される。そして、還元されたメディエータを電気化学的に酸化し、そのとき得られるメディエータの酸化電流を検出することにより、試料液中の基質濃度を求めることが可能となる。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】このような構造のバイオセンサには年々、薄型化、小型化が要求されてきており、スペーサ4を介して形成された空隙4の厚さも薄くする必要があった。しかしながら空隙4内に露出された作用極5及び補正用電極6は試料液に対し撥水性を有し、同じ撥水性を有する対極3と重なって配置されているので、空隙4の厚さも薄くするに従い試料液がこれら電極間への浸入及び移動が困難になり、十分に検査できる程度に電極間に試料液が満たされるまでに時間がかかってしまうという問題があった。また、撥水性の差、すなわち液体に対する界面張力の差から作用極5や補正用電極6の周りのガラス基板部分に先に試料液が浸入するため、電極間に気泡が溜まり、基質と酵素との反応が十分に起こらず、電解測定の再現性が悪いという問題があった。また、上記現象を避けるため、電極表面を親水化処理したり、再湿潤機能を有する界面活性剤を導入する必要があった。

【0004】この発明が解決しようとする課題は、速やかに試料液が検査部に吸引されて迅速に測定を行うことができるバイオセンサを得るにはどのような手段を講じればよいかという点にある。

【0005】

【課題を解決するための手段】請求項1記載の発明は、互いに離間されて対向する一対の基板のうち一方の前記基板の対向内側面に作用極が形成され、他方の前記基板の対向内側面に金属でなる対極が形成され、両基板間に形成される試料液導入空間内に試料液を導入して基質濃度の測定を行うバイオセンサにおいて、前記作用極と前記対極とが平面的に重なり合わないよう配置されていることを特徴としている。請求項1記載の発明においては、作用極と対極とが平面的に重なり合わない配置であるため、試料液が一方の電極、特に対極の表面に滴状をなして保持されることがなく、両基板間の試料液導入空間に試料液を進入させ易くすることができ、迅速な測定を行うことが可能となる。このため、対極材料として、特別に親水性を有する材料を採用したり、親水処理を施したり、界面活性剤の導入を行う必要がなく、バイオセンサの作製を簡素化することができる。

【0006】請求項2記載の発明は、前記作用極の表面には、酵素反応層が形成されていることを特徴としている。請求項3記載の発明は、前記対極が、白金で形成さ

れていることを特徴としている。請求項3記載の発明は、疎水性を有する白金でなる対極を備えた構成においても試料液の導入を迅速に行うことができる。

【0007】請求項4記載の発明は、前記作用極が形成された一方の前記基板に補正用電極が前記作用極と距離を隔てて形成され、当該補正用電極が前記対極と平面的に重なり合わないことを特徴としている。請求項4記載の発明においては、補正用電極を備えたバイオセンサにおいても、試料液導入空間へ迅速に試料液を進入させることができる。

【0008】請求項5記載の発明は、前記補正用電極と前記対極との距離は、前記作用極と前記対極との距離に実質的に等しいことを特徴としている。

【0009】

【発明の実施の形態】以下、この発明に係るバイオセンサの詳細を図面に示す実施形態に基づいて説明する。なお、本実施形態は、アルコール濃度を測定するバイオセンサに本発明を適用した例である。図1(a)は本実施形態のバイオセンサの平面図、図1(b)は同図(a)のX-X断面図、図1(c)は同図(a)のY-Y断面図である。

【0010】図中11は、本実施形態のバイオセンサを示している。このバイオセンサ11は、図に示すように、上ガラス基板12側と下ガラス基板13側とが絶縁性材料でなる板状のスペーサ14を介して接合されている。そして、下ガラス基板13側は、上ガラス基板12側と接合した状態で上ガラス基板12の一侧縁部より外側に突出する延在部13Aが形成されている。なお、スペーサ14には、図1(a)に破線で示すような平面略T字形の試料液導入空間としての中空部15が形成されている。この中空部15は、延在部13Aの幅方向の中央位置から内側に向けてスペーサ14を切り欠いた試料液導入口15Aと、この試料液導入口15Aに連通する、上下ガラス基板12、13の幅方向に沿ってスペーサ14を切り欠いた測定空間15Bと、から構成されている。

【0011】そして、下ガラス基板13の上面には、白金(Pt)でなる対極16が幅寸法が例えば1mm程度の線状パターンに形成されている。この対極16は、下ガラス基板13の幅方向の中央を長手方向に沿って形成されたものであり、この対極16の一方の端部は試料液導入口15Aの開口部まで延在され、スペーサ14の中空部15の中央で露出するように形成されている。

【0012】一方、上ガラス基板12の下面には、図1(a)に示すように、所定距離を介して、長手方向に沿って形成された、白金でなる作用極17と補正用電極18とが形成されている。これら作用極17と補正用電極18の一端部は、例えば径寸法が2.5mmの円形状の測定部17A、18Aが形成されている。なお、作用極17および補正用電極18の測定部17A、18A以外

の部分の幅寸法は1mm程度の線状のパターンに形成されている。そして、これら測定部17A、18Aは、スペーサ14と上下ガラス基板12、13とで形成される中空部15の測定空間15Bの臨むように配置されている。さらに、この測定空間15B内の測定部17Aの表面には、例えばアルコールオキシダーゼを固定してなる酵素反応層19が形成されている。また、補正用電極18の測定部18Aの表面には、活性を消失させたアルコールオキシダーゼを固定してなる不活性酵素層20が形成されている。なお、本実施形態では、図1(a)および(c)に示すように平面的に見て、作用極17の測定部17Aおよび補正用電極18の測定部18Aに対して、対極16が重ならないように配置されている。

【0013】このような構成の本実施形態のバイオセンサ11における作用・動作について以下に説明する。アルコール水溶液を含む試料液を試料液導入口15Aの近傍の延在部13A上に滴下したり、または試料液導入口15Aへ試料液を付着させると、毛細管現象により、試料液が速やかに中空部15へ吸引される。このように、試料液が中空部15内に速やかに吸引される理由は、撥水性を有する白金でなる対極16が作用極17および補正用電極18と平面的に見て重なり合わない配置であると共に、対極16が線状に形成されているため、対極16上で試料液が滴状を保たずに迅速に浸入できるからである。すなわち、中空部15内では、バイオセンサ11の厚さ方向において、上ガラス基板12の、下ガラス基板13の対極16に最も近接している箇所には、測定部17A、18Aを配置せず、作用極17及び補正用電極18より親水性の材料からなる上ガラス基板12があるので、試料液が浸入しやすくなる。ここで、対極16とそれぞれ測定部17A、18Aとの距離は互いに等間隔に設定され、試料液導入口15Aから浸入した試料液は実質的に同時に対極16-測定部17A間と対極16-測定部18A間とを満たすことになる。このため、良好な測定が可能なバイオセンサ11を薄い構造とすることができる。また、作用極17および補正用電極18と、対極16と、が平面的に重ならない配置であるため、上下ガラス基板12、13に形成された電極間に気泡が混入する確立を大幅に低減させることができ、このため測定電流の応答の再現性を向上させることができる。

【0014】上記バイオセンサ11はアルコール濃度を測定するものであったが、グルコース濃度を測定するバイオセンサについて以下に説明する。ここで、測定空間15B内のアノード電極である作用極17の測定部17Aの表面には、アルコールオキシターゼの代わりにグルコースオキシターゼが固定してなる酵素反応層19が形成され、補正用アノード電極である補正用電極18の測定部18Aの表面には、活性を消失させたグルコースオキシターゼが固定してなる不活性酵素層20が形成されている。具体的には、グルコースオキシターゼ(GO

D)と牛血清アルブミン(BSA)とが固定化されて、酵素反応層19が形成されている。この酵素反応層19は、基性であるグルコースが作用極17に到達し得るように連続孔が連通した状態を保つように固定化されている。このような酵素の固定化方法としては、架橋法や包括法などが知られている。本実施形態では、基板12、13をスペーサ14を介して張り合わせる前に、グルコース酸化酵素であるグルコースオキシターゼ(GOD)と牛血清アルブミン(BSA)との混合液を、測定部17Aに適量滴下し、乾燥後、グルタルアルデヒド蒸気中で架橋反応を行って酵素を固定化した。そして、カソード電極である対極16とアノード電極である作用極17、補正用電極18は、それぞれ電圧印加回路および電流測定回路に接続されている。

【0015】このような構成のグルコースセンサを用いて、試料液に対する電流応答を測定した。試料液としては、低濃度のグルコース標準溶液を10 μ l滴下して用いた。なお、試料液の滴下位置は、試料液導入口15Aの入口位置の下ガラス基板13の延在部13Aである。このような位置に滴下すると、標準溶液は毛細管現象により、試料液導入口15Aに沿って測定空間15Bに取り込まれ、作用極17側に標準溶液が迅速に拡散して行く。そして、酵素反応層19で酵素反応が起こり、グルコースが酸化されるとともに、過酸化水素が生成される。標準溶液が、対向する作用極17と対極16との間に十分染み込むのを待って、所定時間経過後、電極間に0.7Vの電圧を電圧印加回路によって印加した。電圧印加により、電極間に過酸化水素の電解電流が流れる。電圧印加してから5秒後の電解電流を電流測定回路により検出した。グルコース濃度0のときのバイアス電流キャンセル後の、グルコース濃度に対する電解電流値をプロットすると、グルコース濃度0~60mg/dlの低濃度領域で、非常に良い直線性が得られた。また、100mg/dlのアスコルビン酸溶液に対する応答は、約0.2 μ Aとなり、従来のカーボンペースト電極の応答の約2.2 μ Aより10分の1以下となり、アスコルビン酸の影響を著しく削減できた。

【0016】本実施形態では、電圧印加により例えば尿酸の酸化電流が生じても、作用極17と補正用アノード電極18との両方に流れ、酵素反応後に生じる過酸化水素の酸化電流は作用極17のみに流れるため、2つの電流の差を取れば、尿酸やその他の還元性物質による影響を除去することができる。具体的には、尿酸100mg/dl、グルコース10mg/dlの混合溶液に対する電流応答とグルコース10mg/dl溶液に対する電流応答の差は0.1 μ Aとなり、グルコースの10倍濃度の尿酸を含むに拘わらず、その影響は著しく削減された。また、作用電極17が白金でなるため、アスコルビン酸100mg/dl溶液に対する応答は、約0.2 μ Aとなり、従来のカーボンペースト電極の応答の約2.

2 μ Aより10分の1以下となり、アスコルビン酸に起因する妨害電流の影響を著しく低減することができた。

【0017】以上、実施形態について説明したが、本発明はこれに限定されるものではなく、構成の要旨に付随する各種の変更が可能である。例えば、上記実施形態は、酵素反応層19の設定に応じて本発明をアルコール濃度やグルコース濃度を測定するバイオセンサに適用したが、コレステロール測定用のバイオセンサ、乳酸測定用のバイオセンサなど各種のバイオセンサに本発明を適用することが可能である。また、上記実施形態では、酵素反応層19として、グルコースオキシダーゼを固定化したものを用いたが、これに加えてメディエータを共存させる構成としても勿論よい。さらに、上記実施形態では、作用極17と補正用電極18とを有する構成であるが、少なくとも作用極と対極とを有する構成であれば本発明を適用することができる。またさらに、上記実施形態においては、基板としてガラス基板を用いたが、絶縁性材料であればガラス以外の材料を用いても勿論よい。また、対極16を除く下ガラス基板13上全面に、その膜厚が200~200 μ mで、孔径が0.2 μ mに設定された親水性処理を施した、ポリテトラフルオロエチレンを施しても良い。

【0018】

【発明の効果】以上の説明から明らかなように、この発明によれば、電極に特別な親水化処理や、界面活性剤の導入を行うことなく、速やかに試料液が検査部に吸引されて迅速に測定を行うことができるバイオセンサを実現できるという効果がある。

【図面の簡単な説明】

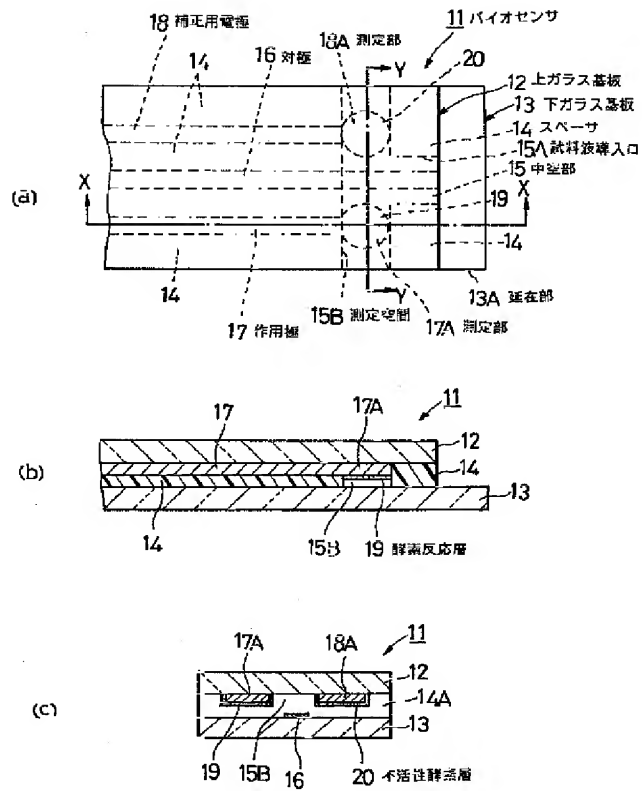
【図1】(a)は本発明に係るバイオセンサの実施形態の平面図、(b)は(a)のX-X断面図、(c)は(a)のY-Y断面図。

【図2】(a)は従来のバイオセンサの平面図、(b)は(a)のA-A断面図、(c)は対極を示す平面図。

【符号の説明】

- 11 バイオセンサ
- 12 上ガラス基板
- 13 下ガラス基板
- 14 スペーサ
- 15 中空部
- 15A 試料液導入口
- 15B 測定空間
- 16 対極
- 17 作用極
- 17A 測定部
- 18 補正用電極
- 18A 測定部
- 19 酵素反応層
- 20 不活性酵素層

【図1】



【図2】

